

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ДОСТИЖЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ, КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ

Материалы 67-ой научной сессии сотрудников университета

2-3 февраля 2012 года

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431-52.82я431
Д 70

Редактор:

Профессор, доктор медицинских наук В.П. Дейкало

Заместитель редактора:

доцент, кандидат медицинских наук С.А. Сушков

Редакционный совет:

Профессор В.Я. Бекиш, д.ф.н. Г.Н. Бузук, профессор В.С. Глушанко, профессор С.Н. Занько, профессор В.И. Козловский, профессор Н.Ю. Коневалова, д.п.н. З.С. Кунцевич, профессор Н.Г. Луд, д.м.н. Л.М. Немцов, профессор М.А. Никольский, профессор В.И. Новикова, профессор В.П. Подпалов, профессор М.Г. Сачек, профессор В.М. Семенов, профессор А.Н. Щупакова, доцент Ю.В. Алексеенко, доцент С.А. Кабанова, доцент Л.Е. Криштопов, доцент С.П. Кулик, доцент П.С. Васильков, доцент И.А. Флоряну.

Д 70 Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 67-й научной сессии сотрудников университета. – Витебск: ВГМУ, 2012. – 521 с.

ISBN 978-985-466-518-4

Представленные в рецензируемом сборнике материалы посвящены проблемам биологии, медицины, фармации, организации здравоохранения, а также вопросам социально-гуманитарных наук, физической культуры и высшей школы. Включены статьи ведущих и молодых ученых ВГМУ и специалистов практического здравоохранения.

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431+52.82я431

© УО «Витебский государственный
медицинский университет», 2012

ISBN 978-985-466-518-4

личества ДНК достаточно проста, не требует значительных затрат на расходные материалы, однако ее широкое применение ограничивается высокой стоимостью конфокального микроскопа. В связи с этим нами предложен другой способ оценки количества ДНК в растворе и опытным путем установлено, что оптическая плотность смеси ДНК с этидием бромида при длине волны 450 нм пропорциональна концентрации ДНК. На основании этих данных нами был разработан метод для оценки ДНК-азной активности в биологических жидкостях.

При пробных постановках метода в качестве фермента мы использовали препарат дезоксирибонуклеазы поджелудочной железы крупного рогатого скота. Опытным путем мы пришли к следующему составу реакционной смеси: раствор ДНК на трис-НСI буфере pH 7,4 0,02 М в концентрации 1 мг/мл с добавлением MgCl₂ до концентрации 0,02 ммоль/л в количестве 180 мкл; раствор ДНК-азы на 0,9% растворе NaCl в количестве 50 мкл. В качестве отрицательного контроля использовали 0,9% раствор NaCl. Реакционную смесь инкубировали в лунках планшет для иммуноферментного анализа в течение 5 часов 30 минут при 370 С. После инкубации к реакционной смеси добавляли 50 мкл 0,1% раствора этидия бромида на 0,02 М трис-НСI буфере pH 7,4. После 30 минутной инкубации проводили учет результатов реакции на многоканальном спектрофотометре при длине волны 450 нм. Чувствительность метода составила 500 нг фермента ДНК-азы на миллилитр реакционной смеси.

В качестве референс-метода использовали полуколичественную модификацию метода риванолового сгустка. При определении ДНК-азной активности методом риванолового сгустка активность достоверно

регистрировалась при концентрации ДНК-азы 1 мкг/мл, а разработанным нами методом – 0,5 мкг/мл. При определении внутрианализной воспроизводимости коэффициент вариации составил 10,18%, межанализной – 10,7 %.

Выводы.

1. Нами предложен простой и доступный метод определения ДНК-азной активности по интенсивности флуоресценции остатка ДНК с возможным учетом на конфокальном микроскопе или спектрофотометрически.

2. После апробации метода с различными биологическими средами возможно его внедрение в лабораторную практику.

Литература:

1. Сидорская, Е.В. ДНКазная активность препаратов сывороточных IgG при заболеваниях щитовидной железы / Е.В. Сидорская, И.И. Генералов, А.Н. Окороков // Мед. новости. – 2000. – №5. – С. 72-74.

2. Suchkov, S.V. Comparative study of catalytic (DNA-hydrolyzing) and cytotoxic properties of anti-DNA autoantibodies / S.V. Suchkov // Bull. Exp. Biol. Med. – 2001. – Vol. 131, № 4. – P. 353–354.

3. ДНК–гидролизующие антитела при лимфо-пролиферативных заболеваниях / А.В. Козырь [и др.] // Бюлл. эксп. биол. мед. – 1996. – № 2. – С. 204–206.

4. Способ определен ДНК-азной активности: пат. 1066 Респ. Беларусь, МСI C12Q 1/34, C12N 9/22. / М.Р. Конорев, К.С. Азаренок, И.И. Генералов, А.Г. Голубева (РБ); заявитель Вит. гос. мед. ун-т. – № 243 А; заявл. 06.04.93; опубл. 14.08.96.

5. Незлин, Л. Руководство для работы на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SPE/ Л. Незлин // Москва – 2008. – 34 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО – МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРЫ МОЗЖЕЧКА ПРИ АДАПТАЦИИ К ПЕРИОДИЧЕСКОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ИШЕМИИ

Ким Т.И., Самсонова И.В., Бурак Г.Г., Кузнецов В.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Актуальность. Интерес к изучению морфолого-функциональных основ мозжечковых расстройств при адаптации к гипобарической гипоксии и ишемии определяется многими обстоятельствами, важнейшие из которых:

1) долговременная, постепенно развивающаяся и достаточно надежная адаптация является необходимой предпосылкой расширения деятельности человека в экстремальных условиях среды и важным фактором повышения резистентности здорового организма и профилактики болезней [1];

2) мозжечковые расстройства во многом определяют клинику, течение и исходы ишемии ствола

мозга, развивающиеся вследствие недостаточности вертебро-базилярного кровообращения [2];

3) структурная организация сосудисто-нервных образований мозжечка, их множественные связи и разнообразные функции во многом определяют состояние организма в условиях относительного покоя и при заболеваниях.

Цель. В модельных опытах на животных изучить нарушения структуры микрососудов и нейронов коры мозжечка при адаптации к гипобарической гипоксии и ишемии головного мозга стволовой локализации.

Материал и методы. Опыты с адаптацией про-

водились на 20 взрослых беспородных крысах-самцах массой 180-200г. Адаптацию крыс к гипобарической гипоксии проводили в вентилируемой барокамере для мелких лабораторных животных по схеме, используемой на кафедре физиологии ВГМУ.

Ишемия ствола мозга вызывалась у кроликов-самцов породы шиншилла массой 2-2,5 кг (61 животное) перевязкой обеих позвоночных артерий у места их отхождения.

Материал исследования – мозжечок фиксировался в нейтральном формалине (рН-7,6) возрастающей концентрации в течение двух недель. Парафиновые срезы (горизонтальные), толщиной 7-9 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон. Используя сетку Автандилова с 400 равноудаленными точками морфометрически оценивали количество нейроцитов и плотность микроциркуляторного русла. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием пакета стандартных статистических программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Адаптация к периодической гипобарической гипоксии.

Визуально установлено, что в коре полушарий мозжечка при гипобарической гипоксии сосуды микроциркуляторного русла равномерно расширены, местами извитые, переполнены форменными элементами крови. Перивасальные пространства не просматривались. На поперечных срезах сосудов выявлены выросты интимной оболочки, что следует рассматривать как адаптивно – компенсаторную реакцию к гипоксии. Увеличение количества микрососудов является результатом увеличения просвета функционирующих сосудов и раскрытия резервных капилляров.

У контрольных животных плотность микрососудов в молекулярном слое составила $16 \pm 1,05$ пересечений, в ганглиозном слое $12 \pm 0,76$, в зернистом слое $18 \pm 0,62$. У экспериментальной группы животных она равнялась: в молекулярном слое $26 \pm 1,58$, в ганглиозном $19 \pm 0,76$, в зернистом слое $29 \pm 0,63$ пересечений.

Результаты исследования нейронального состава показали, что число нейроцитов в молекулярном слое у контрольных животных равно $18 \pm 0,84$, у экспериментальных $16 \pm 0,79$; в ганглионарном слое у контрольных животных $4 \pm 0,1$, у экспериментальных 4 ± 0 ; в зернистом слое у контрольных животных $104 \pm 2,2$, у экспериментальных $101 \pm 1,48$.

Сопоставление результатов исследования показало, что адаптация к периодической гипоксии приводит к увеличению плотности микроциркуляторного русла в молекулярном слое на 62,5%, в слое клеток Пуркинье на 58%, в зернистом слое на 61%. А так же к снижению количества нейроцитов в молекулярном слое на 11%, в зернистом слое на 3%. Мы предполагаем, что причиной незначительного снижения количества нейроцитов в коре мозжечка является нарушение гомеостаза клеток с последующим цитолизом, которые могут быть результатом

восприятия первичной адаптации к гипоксии как стресс – реакции.

Ишемия ствола головного мозга.

Изменения в микрососудах коры всех частей мозжечка (полушария, червь, клочок) проявлялись в самые ранние сроки (15 – 30 мин) после окклюзии позвоночных артерий и выражались в полнокровии сосудов, их извитости, появлении сужений и аневризматических расширений.

К концу первых суток контуры звеньев микроциркуляторного русла становились неровными (вазоконстрикции и вазодилатации), изменялась ангиоархитектоника и гистоструктура стенок микрососудов (набухание эндотелиоцитов, отечность и разрыхление базальных мембран). В венозных отделах капилляров, посткапилляров и в венах развивался стаз форменных элементов крови с образованием sludge-комплексов. В местах сужения капилляров увеличивались количество глиальных элементов. В течение 3-6 суток после операции сосудистые и внутрисосудистые изменения в микрососудах коры мозжечка нарастали, что проявлялось дальнейшим изменением их архитектоники, застойным полнокровием в емкостных сосудах, стазом форменных элементов крови, разрыхлением стенки венул с микроизлияниями в нейропил мозжечка. В более поздние сроки (30 суток после операции) сосудистые, внутрисосудистые и внесосудистые изменения в коре мозжечка постепенно нормализовались.

Таким образом, при ишемии ствола мозга изменения в эфферентных нейроцитах коры мозжечка были сопряжены во времени с изменением в микроциркуляторном русле. На ранних стадиях ишемии выявлялись нейроциты с реактивными изменениями (дис- и эктопия ядер) с последующим развитием атрофических (карио- и цитопикноз) и некротических (карио- и цитолизис, кариорексис) изменений.

Выводы:

1. Адаптация к периодической гипоксии оказывает стимулирующее влияние на сосуды всех звеньев микроциркуляторного русла в коре полушарий мозжечка, что проявляется вазодилатацией, извитостью, набуханием эндотелия функционирующих сосудов.

2. При ишемии ствола головного мозга развивались сосудистые, внутри- и внесосудистые изменения во всех звеньях микроциркуляторного русла коры мозжечка, которые имели свои морфометрические характеристики в различные сроки после наступления ишемии.

Литература:

1. Меерсон, Ф. З. Адаптация к периодической гипоксии в терапии и профилактике/Ф. З. Меерсон [и др.]/М.: Наука. -1989. - 70с.
2. Leiner, H. C. The underrepresented cerebellum / H.C. Leiner, A.L. Leiner, R.S. Dow// Hum Brain Mapp. - 1994. - Vol.2, №4. – P.44 - 54.